

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Prüfung einer Geschlechts- und
Altersabhängigkeit der Korrelation
zwischen Restaktivität der menschlichen
Serumcholinesterase nach Vergiftung
mit DFP und Ausgangsaktivität

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Christian Müller
aus Waldkirchen

1981

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

**Prüfung einer Geschlechts- und
Altersabhängigkeit der Korrelation
zwischen Restaktivität der menschlichen
Serumcholinesterase nach Vergiftung
mit DFP und Ausgangsaktivität**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Christian Müller
aus Waldkirchen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker
Referent: Prof. Dr.Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling
Tag der mündlichen Prüfung: 21.12.1981

Meiner lieben Babsi gewidmet

Inhalt	1
1. EINLEITUNG	3
Allgemeiner Überblick über die Alkylphosphate und Bemerkungen zur Serum-Cholinesterase	
1.1. E 600	4
1.1.1. Anti-ChE-Technik	5
1.2. DFP	5
2. PROBLEMSTELLUNG	7
3. UNTERSUCHUNGEN	
3.1. Meßmethode nach WARBURG	8
3.2. Herstellung des DFP-Ansatzes	9
3.3. Inkubationsphase	10
3.4. Messung	10
4. ERGEBNISSE	
4.1. Meßwerte von 70 untersuchten Probanden	11
4.2. Darstellung im Histogramm	13
4.3. Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz	16
4.4. Direkter Vergleich der Meßwerte der einzelnen Probanden	20
4.5. Geschlechtsabhängigkeit der Korrelation	22
4.6. Altersabhängigkeit der Korrelation	25
5. DISKUSSION	27
Literaturverzeichnis	29

Digitized by the Internet Archive
in 2026

1) Einleitung

Die Alkylphosphate spielen eine wichtige Rolle, seit ihre biologische Wirksamkeit in der Humanmedizin und der Schädlingsbekämpfung erkannt wurde. Ihre wohl populärsten Vertreter dürften das E 605 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenol)-thionophosphat), bekannt geworden als Insektizid, und DFP (Diisopropyl-fluoro-phosphat), das zu den militärischen Kampfstoffen zählt, sein.

GROB (1947) konnte zeigen, daß die Phosphorsäureester in der Lage waren, die Cholinesterasen stark zu hemmen. Die Acetylcholinesterase ist ein Ferment, das in großen Mengen in der Endplatte, vor allem in den postsynaptischen Mikrofalten vorhanden ist, wie histochemische Untersuchungen zeigten. Die durch einen Nervenimpuls präsynaptisch freigesetzte Acetylcholin-Menge wird postsynaptisch innerhalb etwa 2 ms durch die Cholinesterase in die unwirksamen Bruchstücke Cholin und Essigsäure gespalten. Dies ist notwendig, damit ein folgender Impuls ein neues Aktionspotential auslösen kann. Denn die Muskelfaser muß bekanntlich rhythmisch erregt werden, wenn sie länger tätig sein soll.

Nun sind eine Reihe von Stoffen bekannt, die die Cholinesterase dadurch hemmen können, daß sie sich mit ihr verbinden. Man unterscheidet reversible und irreversible Esterasehemmer. Zu den ersteren gehören Eserin und Prostigmin, die durch Erhöhung der Acetylcholin-Konzentration aus der reversiblen Verbindung mit der Esterase wieder verdrängt werden können.

Dies ist nicht der Fall bei den Alkylphosphaten, die sich fest mit der Esterase verbinden und sie irreversibel hemmen. Da der Körper nicht in der Lage ist seine Cholinesterase rasch zu ersetzen, steigt der Acetylcholin-Spiegel in Gewebe und Blut laufend an, führt zu Dauerdepola-

einteilen ließen, die sich durch die Höhe der Para-oxonaseaktivität unterschieden. Diese Gruppeneinteilung führte er auf genetische Varianten des Enzyms zurück.

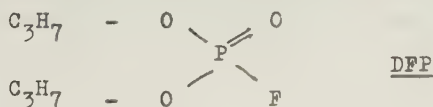
GELDMACHER v. MALLINCKRODT et al. (1969) fanden, daß E 600 in $1,6 \times 10^{-7}$ molarer Konzentration zunächst in allen Fällen zur völligen Vergiftung der ACh-spaltenden Enzyme des menschlichen Serums führt (Messung in der Warburg Apparatur nach der Methode von FRIEDBERG und SAKAI (1958)).

1.1.1. Anti-ChE-Technik

Zur Messung der Aktivität der Serum-Paraoxonase wurde von GELDMACHER v. MALLINCKRODT et al. seit 1969 die Anti-Cholinesterase-Technik angewandt. Hier wird die im Serum vorkommende Pseudocholinesterase (EC 3.1.1.8) als Indikator benutzt. Der Mechanismus der Meßreaktion beruht darauf, daß die Cholinesterase das Acetylcholin in Cholin und Essigsäure aufspaltet. Die freiwerdende Säure wird nun vom Bicarbonatpuffer unter Entstehung von Kohlendioxyd abgepuffert; das freiwerdende Gas wird in der Warburgapparatur gemessen (Manometrische Methode von AMMON (1934) in der Modifikation von FRIEDBERG und SAKAI (1958), jedoch bei einem pH-Wert von 7,2). Je höher nun die Paraoxonase-Aktivität, desto höher ist auch die ChE-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 (GELDMACHER v. MALLINCKRODT et al. (1972)).

1.2. DFP

Tritt an die Stelle der O-nitrophenyl-Gruppe des E 600 ein Fluoratom, erhält man Diisopropylfluoro-phosphat (DFP).



SCHRADER gelang es erstmals in Deutschland DFP zu synthetisieren. Es handelt sich um ein stark lipophiles Organophosphat mit hohem Dampfdruck und übertrifft in seiner Toxizität bei weitem das Paraoxon. Als Vergleichsmaßstab sei der sog. I_{50} -Wert herangezogen, der die molare Konzentration des Hemmstoffs angibt, die nötig ist, um die Cholinesteraseaktivität auf die Hälfte zu reduzieren. Für Pferdeserum und DFP beträgt $I_{50} = 1,3 \times 10^{-9}$, für Pferdeserum und E 600 ist $I_{50} = 1,4 \times 10^{-7}$ (ROSIVAL et al., 1959).

Da DFP irreversibel an Erythrozyten gebunden wird, konnte es klinisch zur Bestimmung der Überlebenszeit von Erythrozyten verwendet werden (BOVE und EBAUGH 1958, HJORT et al., 1960, CLINE und BERLIN 1962).

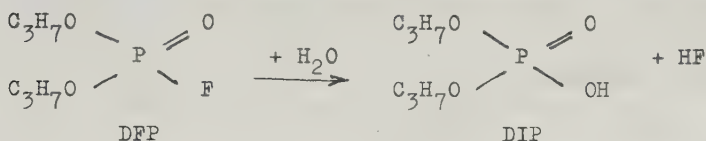
MAZUR und BODANSKI (1946) entdeckten in Plasma und Geweben von Kaninchen und Menschen ein DFP-hydrolysierendes Enzym. Dieses war nicht identisch mit einer bekannten Cholinesterase oder Phosphatase. Die Spaltung erfolgte vorwiegend an der Phosphor-Fluor-Bindung, zu einem geringen Teil an der Alkyl-Ester-Bindung. Bei Reinigung des Enzyms bis zu einer Konzentration auf das 30-fache verlor es seine Phosphatase-, Esterase- und Cholinesterase-Aktivität. GROB und Mitarbeiter (1947) nannten es nun "Phosphofluorase" bzw. "Fluorophosphatase".

COHEN und WARRINGA (1954) untersuchten den Blutspiegel und die Ausscheidung von $DF^{32}P$ nach intramuskulärer Injektion. Sie stellten fest, daß ein Maximum an Radioaktivität im peripheren Blut nach 90 Minuten erreicht und ein kleiner Teil des injizierten P^{32} irreversibel an Erythrozyten und im Plasma gebunden wurde.

SCHAUMANN und SCHILLER (1960) arbeiteten mit Seren weißer Mäuse um die Inaktivierung von Cholinesterase-

hemmern zu untersuchen. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß DFP weder fermentativ abgebaut noch adsorbiert wird, während Paraoxon schnell durch das Serum abgebaut und außerdem stark adsorbiert wird.

Von WASSERMANN, HANSEN und SCHAUM (1967) liegen Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von DFP und seinen Stoffwechselprodukten im Organismus vor. Danach wird ein wesentlicher Teil von DFP zu Diisopropyl-phosphat (DIP) abgebaut:



DFP-Mengen von 0,1 mg/k werden im Serum und in der Lunge gebunden, Gaben von 3 und 6 mg/k verteilen sich nahezu gleichmäßig über den Organismus und reichern sich nur in Leber und Niere an.

Die Ausscheidung von DFP und seinen Abbauprodukten DIP und F^- erfolgt hauptsächlich im Urin, in geringem Maße auch mit der Galle.

2. Problemstellung

Über den enzymatischen Abbau der Alkylphosphate liegen eine Reihe von Untersuchungen vor. So gilt beispielsweise die Existenz eines Trimorphismus der Serum-Paraoxonase als gesichert (GELDMACHER v. MALLINCKRODT et al. 1969, 1973, 1979). Bezüglich des DFP-spaltenden Enzyms kann mit großer Wahrscheinlichkeit von einer unimodalen (Gauß'schen) Verteilung ausgegangen werden (GREINER, BURGER), wenn auch die Zahl der untersuchten Personen

noch verhältnismäßig gering ist. Eine Korrelation zwischen der menschlichen Serum-Paraoxonase-Aktivität und einer DFP-spaltenden Aktivität im Serum wurde von BURGER verneint.

In dieser Arbeit soll nun untersucht werden, ob eine Korrelation zwischen der Restaktivität der menschlichen Serumcholinesterase nach Vergiftung mit DFP und der Ausgangsaktivität besteht. Es wird weiter eine Geschlechts- und Altersabhängigkeit der Korrelation geprüft.

3. Untersuchungen

3.1. Meßmethode nach WARBURG

Wir verwendeten zur Bestimmung der Cholinesteraseaktivität vor und nach Vergiftung mit DFP die Warburgapparatur Typ V 85 der Firma Braun, Melsungen. Mit Hilfe dieser Apparatur lassen sich kleinste Gasmengen quantitativ erfassen. Die Entwicklung dieser Apparatur geht zurück auf den Physiologen und Nobelpreisträger Otto H. WARBURG.

Die Apparatur besteht aus einem Reaktionsgefäß und dem damit verbundenen Warburg-Manometer. Kommt es im Reaktionsgefäß zu einer Veränderung der Gasmenge, ist diese an der Flüssigkeitssäule im Manometer abzulesen. Da nur immer sehr kleine Gasmengen gemessen werden, haben die Kölbchen ein Volumen, das im μ l-Bereich geeicht ist. Die entstandene Gasmenge kann wie folgt berechnet werden:

$$x \text{ (}\mu\text{l)} = K \cdot h \text{ (mm)}$$

Wir hatten von 70 Probanden Blutseren zur Verfügung, die zentrifugiert wurden. Das Serum im Überstand wur-

de abpipettiert und bis zur Messung im Kühlschrank aufbewahrt.

Die Methode zur Messung mit DFP wurde von GREINER erarbeitet. Da das DFP einen hohen Dampfdruck hat und außerordentlich toxisch ist, mußten wir zur Herstellung der Giftlösung besondere Vorsichtsmaßnahmen ergreifen. Hierzu gehörte die Aufbewahrung des konzentrierten Giftes in einem doppelt verschlossenen Behälter im Tiefkühlgerät außerhalb des Meßlabors. Außerdem mußte der DFP-Ansatz außerhalb des Meßlabors unter einer Abzugsanlage hergestellt werden. Für Notfälle wurde eine 2 %ige NaOH-Lösung bereitgestellt, die bei Berührung von DFP mit der Haut das alkaliempfindliche Gift unwirksam machte.

3.2. Herstellung des DFP-Ansatzes

Die Giftlösung wurde folgendermaßen hergestellt: Zu 90 ml aqua bidest wurde 1 μ l DFP gegeben, dann 8 Minuten kräftig geschüttelt. Hieraus wurden 5 μ l noch einmal in 40 ml Verdünnungslösung gelöst und ebenfalls 8 Minuten geschüttelt. Die Verdünnungslösung setzt sich aus 10 Teilen 0,9 %iger NaCl-Lösung und 3 Teilen 1,26 %iger NaHCO₃-Lösung zusammen.

Die für Meßergebnisse in günstigen Bereichen ermittelte Konzentration beträgt $8,5 \cdot 10^{-9}$ Mol/l im Giftansatz, im Inkubationsansatz ist die Konzentration dann $7,65 \cdot 10^{-9}$ molar.

Der darauffolgende Ablauf der Messung wurde von uns mit der Stoppuhr durchgeführt und mußte nach immer den gleichen Handgriffen ablaufen, um für alle 70 verschiedene Seren möglichst konstante Bedingungen zu schaffen. Der Versuchsablauf setzte sich zusammen aus der Inkubationsphase und der Meßzeit.

3.3. Inkubationsphase

Die Inkubationsphase dauerte 60 Minuten. Wir mischten die zu untersuchenden Seren (je 0,15 ml) mit gifthaltiger Verdünnungslösung (1,35 ml) im Reagenzglas. 0,5 ml davon wurden in die Anhangsbirne des Warburggefäßes pipettiert. Im Hauptraum des Kölbchens befanden sich 1,5 ml der Substratverdünnung, einer 0,54 %igen Butyrylcholinjodidlösung. Außerdem liefen jeweils 2 unvergiftete Ansätze mit. Die ebenfalls mitlaufenden Leerwerte (0,5 ml reine Verdünnungslösung in der Anhangsbirne) sollten die Eigenhydrolyse des Butyrylcholinjodid festhalten. Die Warburg-Kölbchen wurden anschließend auf die Manometer gesetzt und im Wasserbad bei 37°C geschüttelt. Nach 40 Minuten wurden die Kölbchen mit einem Gasgemisch aus 5 % CO₂ und 95 % N₂ begast. Dadurch fiel der pH-Wert im Ansatz von 7,7 auf 7,2 (SÜLLMANN 1961, 1964). Kurz vor Ablauf der 60 Minuten wurde der Inhalt der Anhangsbirne in den Hauptraum gekippt und die Anhangsbirnen durch Drehung des Glasstopfens verschlossen. Die Manometer wurden auf Mittelstellung justiert und die Vordifferenzen der Flüssigkeitssäulen notiert.

3.4. Messung

Mit dem Verschließen der Manometerhähne begann die Meßzeit. Der erste Zwischenwert wurde nach 15 Minuten abgelesen und protokolliert. Nach 30 Minuten wurde die Endablesung vorgenommen. Während der gesamten Versuchsdauer blieb die Schüttelautomatik in Betrieb, nur zum Ablesen wurde sie für kurze Zeit abgestellt.

4. Ergebnisse

4.1. Meßwerte von 70 untersuchten Probanden

In der folgenden Tabelle sind die Meßwerte der 70 untersuchten Probanden wiedergegeben. Auf die Angabe des Namens wurde aus Gründen des Datenschutzes verzichtet, die einzelnen Probanden wurden durchnummeriert (1 - 70). Aus Spalte 2 ist das jeweilige Alter zu ersehen, aus Spalte 3 die dazugehörige Cholinesterase-Ausgangsaktivität der unvergifteten Ansätze in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ Min}$, aus Spalte 4 die Restaktivität der vergifteten Ansätze in $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ Min}$ und aus Spalte 5 die Restaktivität in % der Ausgangsaktivität.

Tab. 1: Meßwerte der 70 untersuchten Probanden

Proband	Alter	Ausg.- Aktiv. $\mu\text{l CO}_2/30 \text{ Min}$	Rest.- Aktiv.	Rest.- Aktiv. %
Proband 1	24	204	74,7	36,5
" 2	26	96	13,7	14,3
" 3	52	215	73,3	34,1
" 4	53	188	45,1	24,0
" 5	30	151	34,1	22,6
" 6	48	150	44,2	29,5
" 7	50	184	64,4	35,0
" 8	44	178	41,5	23,3
" 9	50	213	60,1	28,2
" 10	48	167	43,4	26,0
" 11	40	142	31,7	22,3
" 12	40	213	65,2	30,6
" 13	19	166	17,1	10,3
" 14	17	184	25,2	13,7
" 15	26	172	29,9	17,4
" 16	78	180	57,1	31,7
" 17	28	102	5,9	5,8
" 18	36	121	29,0	24,0
" 19	26	150	19,9	13,3

Tab. 1 Fortsetzung:

Proband	Alter	Ausg.- Aktiv.	Rest.- Aktiv.	Rest.- Aktiv.
		$\mu\text{l CO}_2/30 \text{ Min}$		%
Proband 20	20	208	67,2	32,2
" 21	20	178	46,3	26,0
" 22	51	316	51,8	16,4
" 23	51	217	107,4	49,5
" 24	26	259	67,8	26,2
" 25	24	146	0,7	5,0
" 26	49	168	36,3	21,6
" 27	51	129	19,3	15,0
" 28	22	195	71,8	36,8
" 29	57	191	93,2	48,8
" 30	24	208	58,0	27,9
" 31	41	208	51,8	24,9
" 32	26	225	72,9	32,4
" 33	25	202	66,0	32,7
" 34	23	122	12,2	10,0
" 35	46	109	4,2	3,9
" 36	35	170	41,3	24,3
" 37	24	161	45,1	28,0
" 38	26	157	30,1	19,2
" 39	72	242	100,9	41,7
" 40	57	190	35,3	18,6
" 41	58	188	47,9	25,5
" 42	65	195	49,5	25,4
" 43	63	175	40,1	22,9
" 44	31	161	29,8	18,5
" 45	27	250	65,0	26,0
" 46	34	105	21,6	20,6
" 47	21	191	65,9	34,5
" 48	49	199	39,4	19,8
" 49	54	182	26,7	14,7
" 50	22	118	16,2	13,7
" 51	25	146	21,5	14,7

Tab. 1 Fortsetzung:

Proband		Alter	Ausg.- Aktiv.	Rest.- Aktiv.	Rest.- Aktiv.
			$\mu\text{l CO}_2/30 \text{ Min}$		%
Proband	52	27	162	22,5	13,9
"	53	76	139	20,3	14,6
"	54	78	125	0,8	6,5
"	55	39	187	44,7	23,9
"	56	27	257	79,7	31,0
"	57	24	202	55,3	27,4
"	58	24	227	71,5	31,5
"	59	47	74	10,8	14,6
"	60	43	121	18,6	15,4
"	61	28	155	33,6	21,7
"	62	28	191	39,9	20,9
"	63	38	163	39,3	24,1
"	64	28	162	16,4	10,1
"	65	40	254	66,5	26,2
"	66	29	248	145,6	58,8
"	67	30	166	38,0	22,9
"	68	51	133	14,1	10,6
"	69	51	141	31,2	22,1
"	70	23	190	35,3	18,6

4.2. Darstellung im Histogramm

Im Histogramm sollen die Häufigkeitsverteilungen der Serum-Cholinesterase-Aktivitäten und die Restaktivitätswerte nach Vergiftung mit DFP von 70 Probanden dargestellt werden.

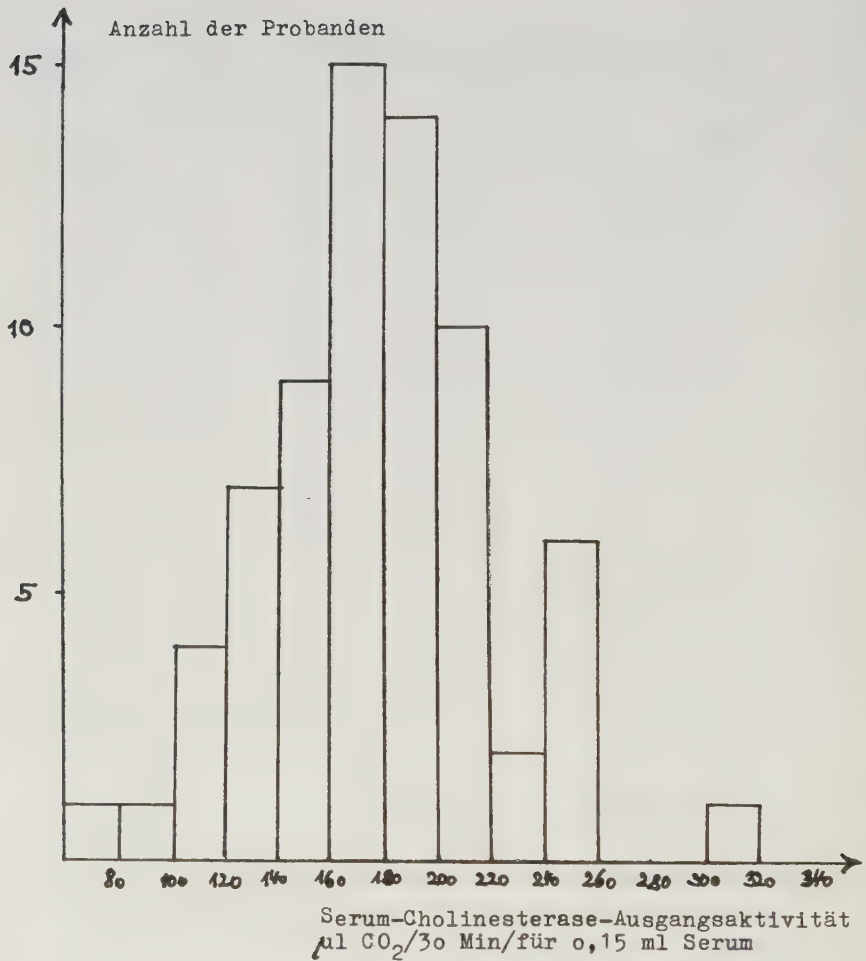


Abb. 1

Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität von 70 Probanden

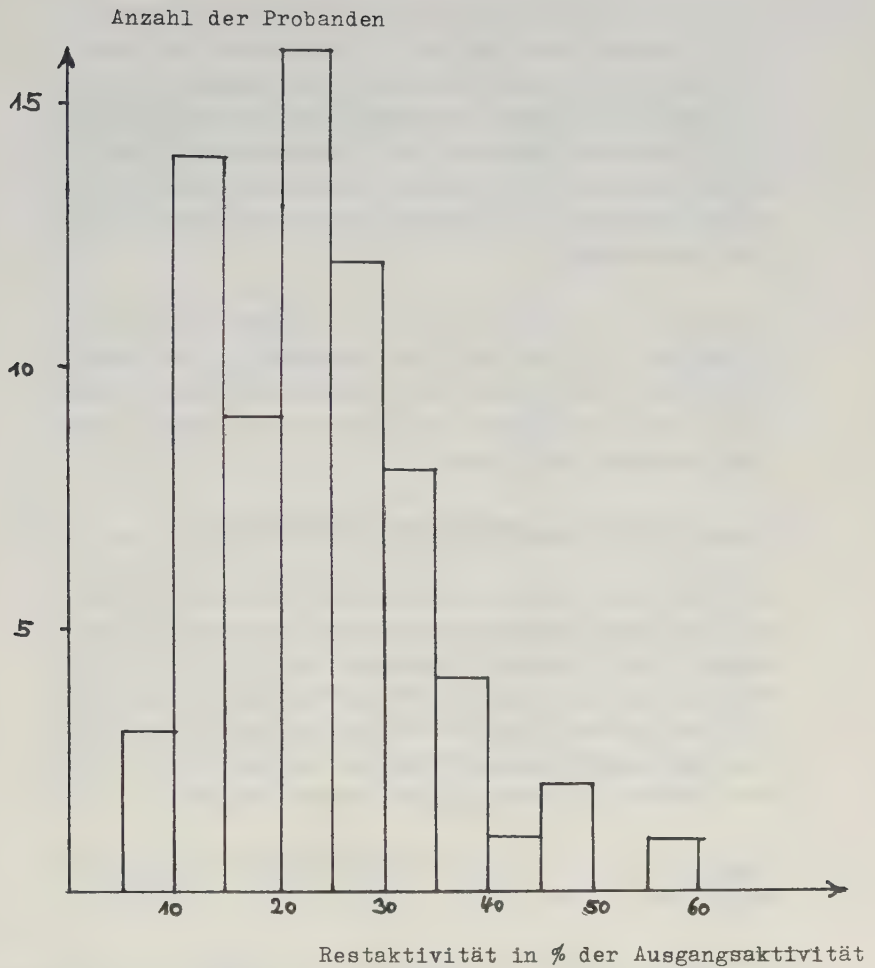


Abb. 2

Cholinesterase-Restaktivität im Serum von 70 Probanden
nach Vergiftung mit DFP ($c = 7,65 \cdot 10^{-9} \text{ mol}$)

Abb. 1 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Serumcholinesteraseaktivität bei 70 Probanden. Man kann hier von einer unimodalen Verteilung ausgehen. Eine Korrelation zwischen der Restaktivität der menschlichen Serumcholinesterase nach Vergiftung mit DFP und der Ausgangsaktivität würde also eine unimodale Verteilung auch bei der Restaktivität nach Vergiftung mit DFP voraussetzen.

In Abb. 2 ist die Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit DFP graphisch dargestellt. Man kann hier aber nicht eindeutig eine unimodale Verteilung herauslesen, es könnte genausogut eine gewisse Gruppeneinteilung vorliegen.

4.3. Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz

Aus der Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz könnte man eine Korrelation zwischen der Restaktivität der menschlichen Serumcholinesterase nach Vergiftung mit DFP und der Ausgangsaktivität herauslesen. Ein Indiz für eine solche Korrelation wäre es beispielsweise, wenn die aufgetragenen Meßwerte in den beiden folgenden Abbildungen jeweils eine Gerade ergeben.

Tab. 2: Werte zu den Darstellungen im Wahrscheinlichkeitsnetz

Bereich d. Ausgangsaktivität in %	Anzahl d. Fälle	Prozent d. Gesamtzahl	Summenhäufigkeit
60 - 80	1	1,42	1,42
81 - 100	1	1,42	2,84
101 - 120	4	5,7	8,54
121 - 140	7	10,0	18,54
141 - 160	9	12,85	31,39
161 - 180	15	21,42	52,81
181 - 200	14	20,0	72,81

Tab. 2 Fortsetzung:

Bereich d. Ausgangs- aktivität in %	Anzahl d. Fälle	Prozent d. Gesamtzahl	Summen- häufigkeit
201 - 220	10	14,28	87,09
221 - 240	2	2,85	89,94
241 - 260	6	8,57	98,51
261 - 280	0	0,0	
281 - 300	0	0,0	
301 - 320	1	1,42	100

Bereich d. Rest- aktivität in %	Anzahl d. Fälle	Prozent d. Gesamtzahl	Summen- häufigkeit
5 - 9,9	3	4,28	4,28
10 - 14,9	14	20,0	24,28
15 - 19,9	9	12,86	37,14
20 - 24,9	16	22,86	60,0
25 - 29,9	12	17,14	77,14
30 - 34,9	8	11,43	88,57
35 - 39,9	4	5,71	94,28
40 - 44,9	1	1,43	95,71
45 - 49,9	2	2,86	98,57
50 - 54,9	0	0,0	
55 - 60	1	1,43	100

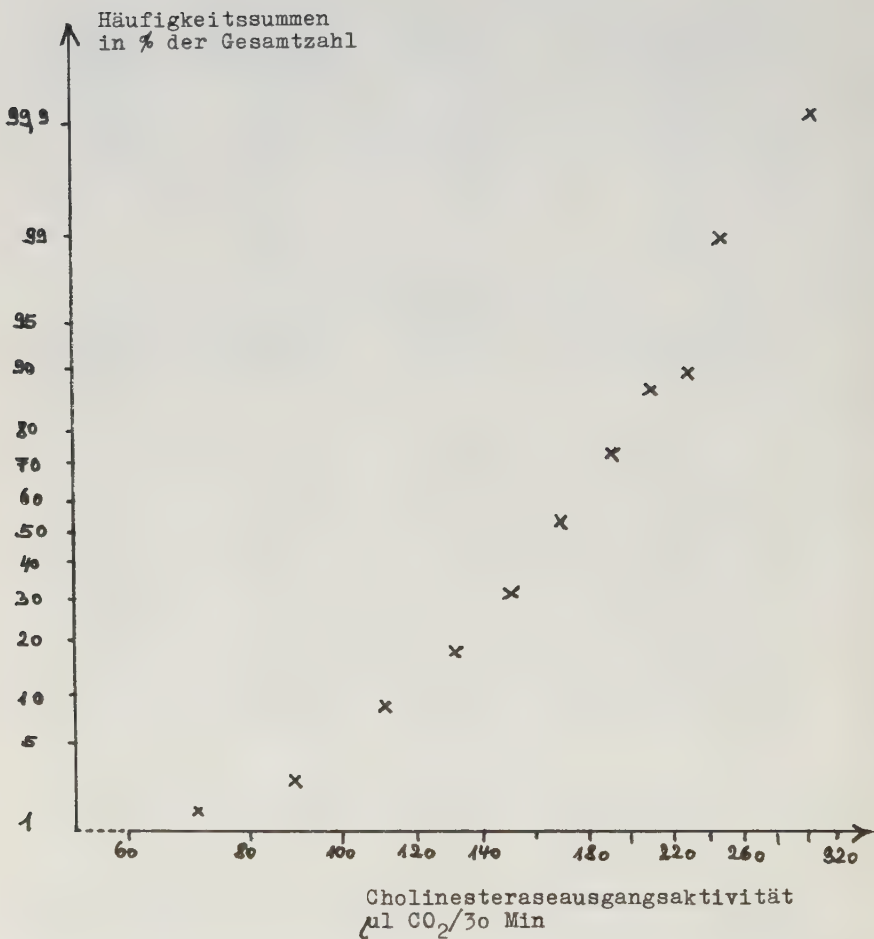


Abb. 3

Cholinesteraseausgangsaktivität im Serum von 70 Probanden
(Abszisse logarithmisch, Ordinate nach dem Gauß'schen
Integral).

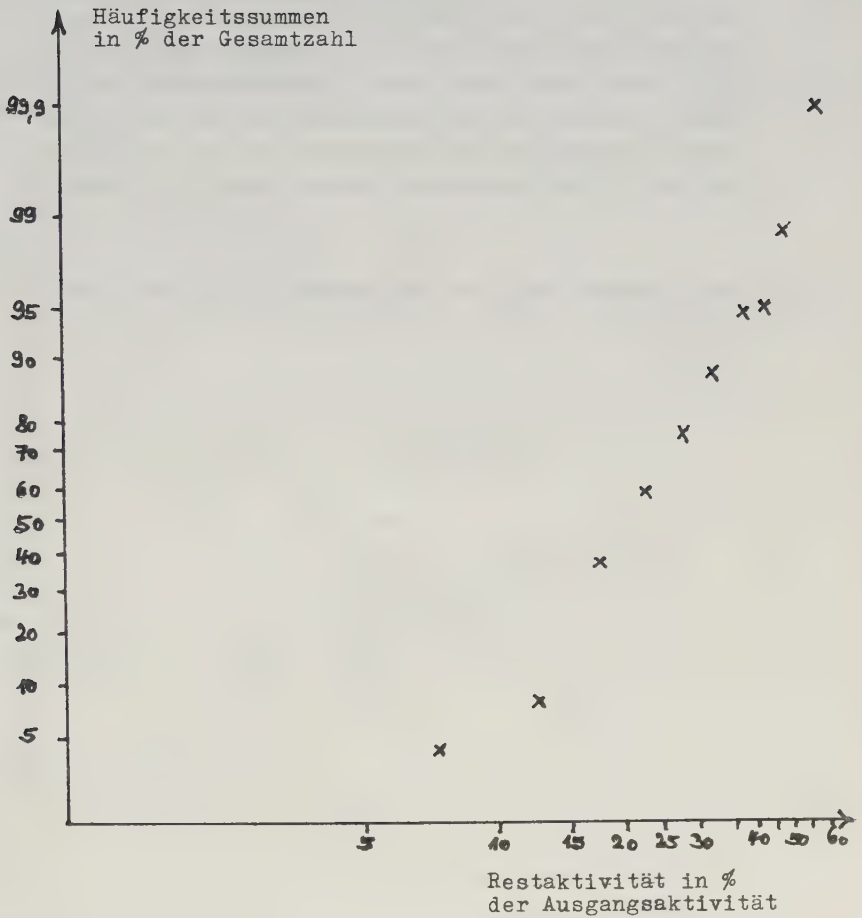


Abb. 4

Cholinesterase-Restaktivität im Serum von 70 Probanden
nach Vergiftung mit DFP
(Abszisse logarithmisch, Ordinate nach dem Gauß'schen
Integral).

Die Darstellungen im Wahrscheinlichkeitsnetz lassen ebenfalls keine eindeutige Aussage zu. Zwar weisen die Kurven in Abb. 3 und 4 eine gewisse Ähnlichkeit auf, ein hinreichender Schluß bezüglich einer Korrelation kann daraus aber nicht gezogen werden. Erst wenn man die Ausgangsaktivität mit der Restaktivität jeder einzelnen Person direkt miteinander vergleicht und dies in der graphischen Darstellung eine Gerade ergibt, kann man eine Korrelation bejahen.

4.4. Direkter Vergleich der Meßwerte der einzelnen Probanden

Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität
 ul CO₂/30 Min

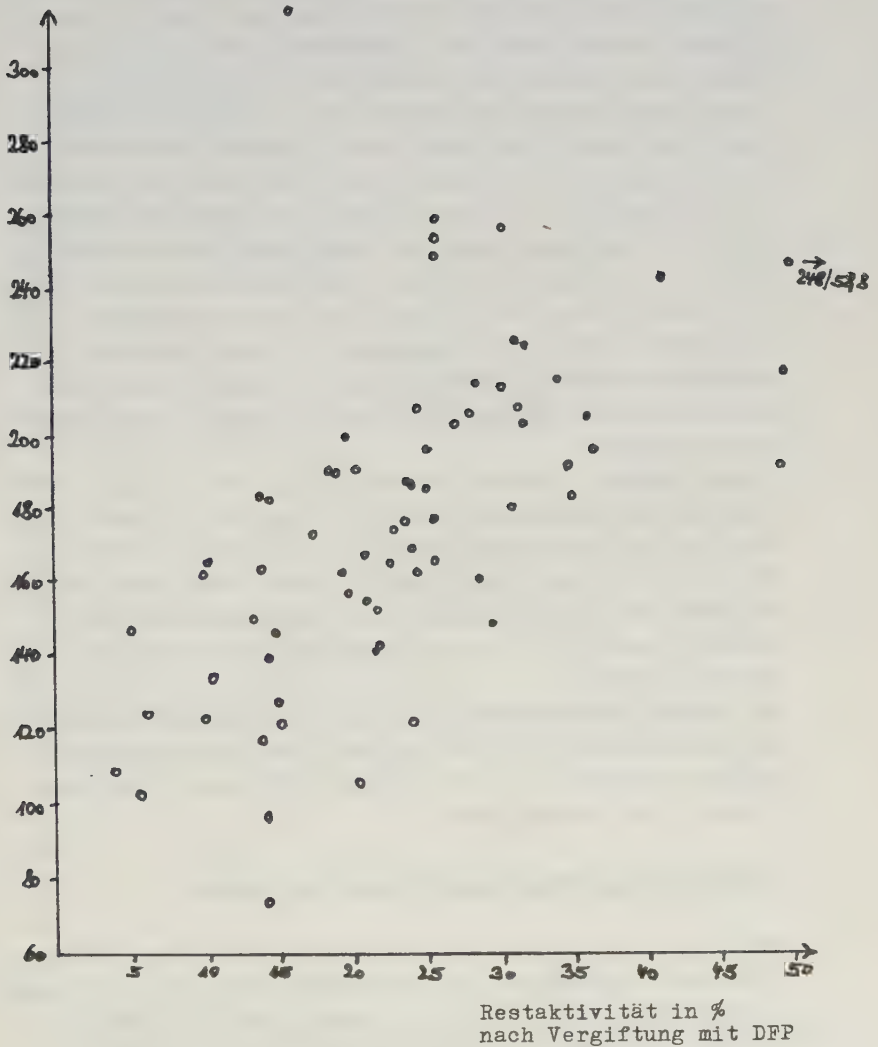


Abb. 5

Graphische Darstellung der Korrelation zwischen der Restaktivität der menschlichen Serum-DFPase nach Vergiftung mit DFP und der Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität.

In Abb. 5 entstand durch Auftragen der Ausgangsaktivität gegen die Restaktivität eine Wolke von Punkten, die bei oberflächlicher Betrachtung zunächst keine Gesetzmäßigkeit erkennen läßt. Wollte man eine Korrelation bejahen, müßte diese sich graphisch in einer Geraden dargestellt haben.

Vernachlässigt man den Extremwert (316/16,4) scharen sich alle Punkte innerhalb einer gewissen Bandbreite um eine gedachte Gerade, die man etwa durch die Punkte 102/5,8 und 242/41,7 legen könnte. Die verhältnismäßig große Streuung mag zustandekommen, durch geringe Fehlerquellen beim Pipettieren und durch Meßungenauigkeiten. Als weiterer möglicher Störfaktor kann hinzukommen, daß die Seren nach der Blutentnahme oft nicht gleichen Temperaturbedingungen ausgesetzt waren, sondern aus technischen Gründen manchmal erst nach Stunden in den Kühlschrank kamen.

Diese lineare Anordnung der Punkte spricht nun für eine gegenseitige Beziehung. Allgemein kann gesagt werden: Je höher die Ausgangsaktivität, desto höher auch die Restaktivität nach Vergiftung mit DFP. Eine Korrelation zwischen der Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität und der Restaktivität nach Vergiftung mit DFP wäre danach zu bejahen.

Bei einem rechnerischen Vergleich der Ausgangsaktivität mit der Restaktivität erhält man einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,59$. Dieser Wert spricht für eine gegenseitige Abhängigkeit.

4.5. Geschlechtsabhängigkeit der Korrelation

Weiter ist zu untersuchen, ob sich an dieser Korrelation etwas ändert, wenn man die Versuchsergebnisse geschlechtsbezogen diskutiert. Es wäre denkbar, daß die Korrelation nur für ein Geschlecht gilt und die verhältnismäßig große Streuung dadurch zustande kommt, daß beim anderen Geschlecht eine Korrelation nicht vorliegt.

Zu diesem Zweck wird nun noch einmal die Serum-Cholin-

esterase-Ausgangsaktivität direkt mit der Restaktivität nach Vergiftung mit DFP verglichen, aber jeweils nach Geschlechtern getrennt.

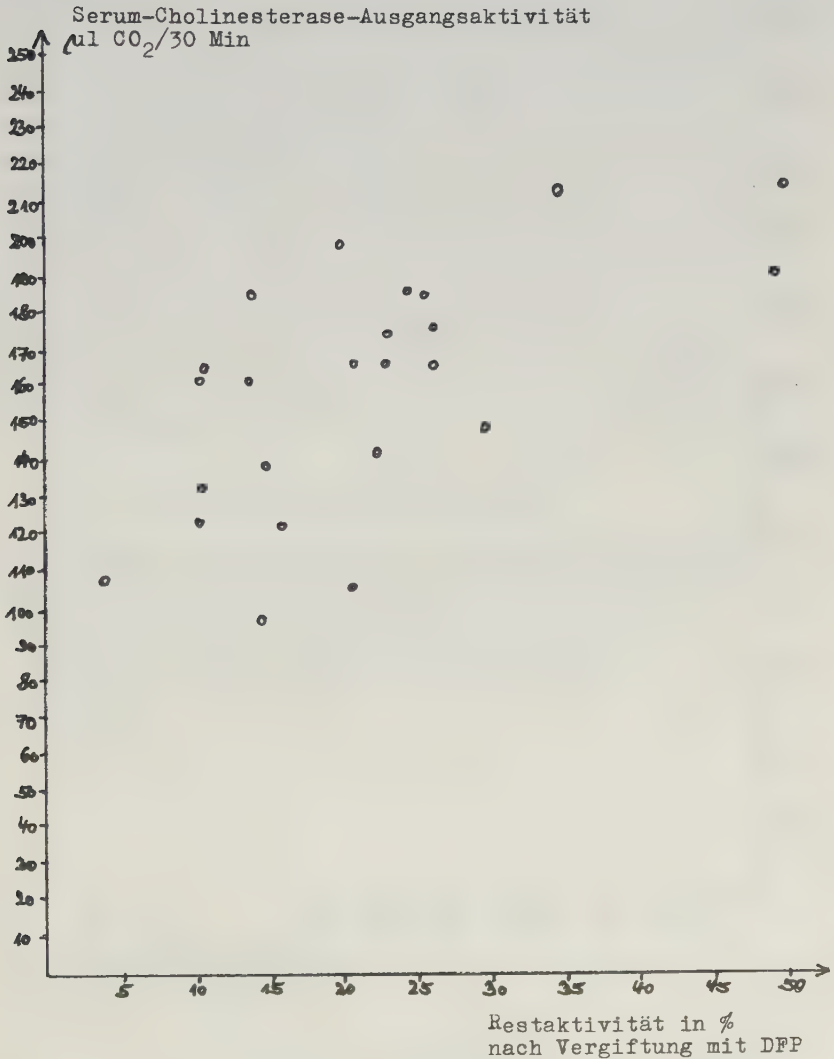


Abb. 6

Korrelation bei 24 weiblichen Probanden

Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität
ul CO₂/30 Min

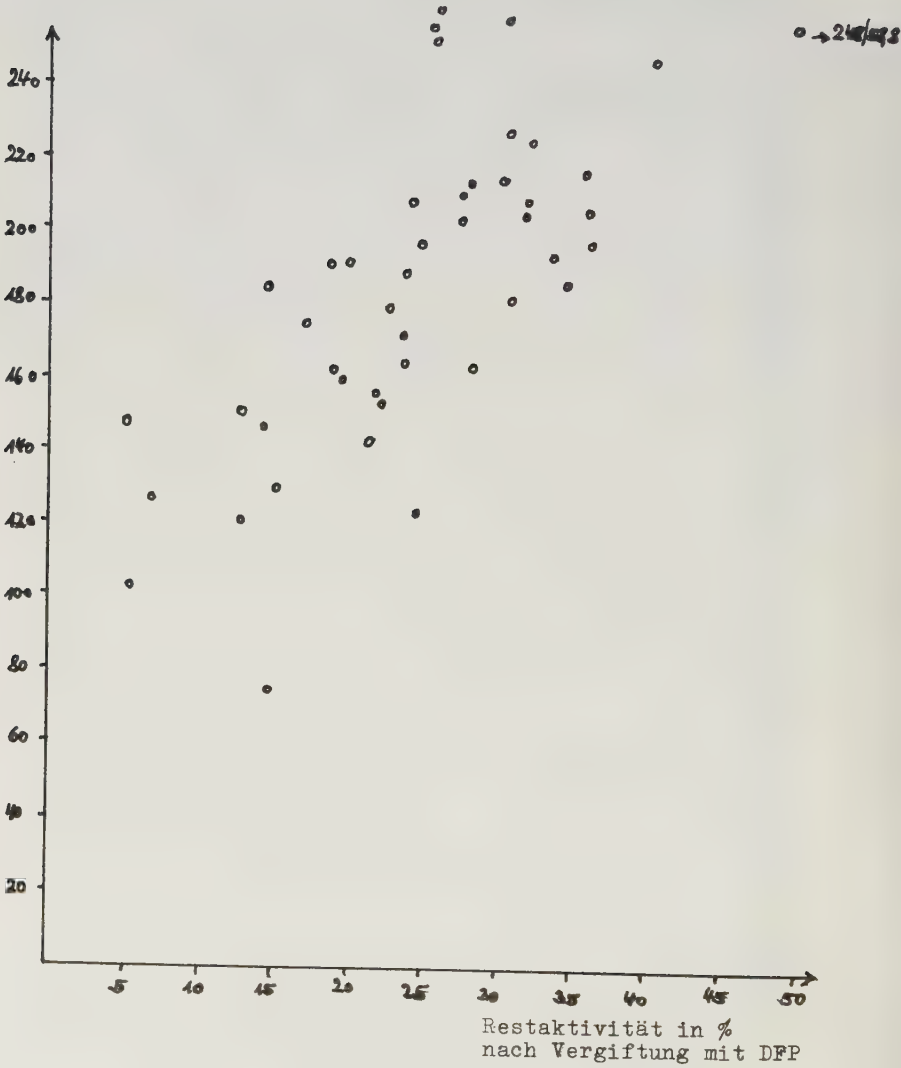


Abb. 7

Korrelation bei 46 männlichen Probanden

Sowohl in Abb. 6 als auch in Abb. 7 ist die Tendenz erkennbar, daß alle eingetragenen Punkte sich um eine gedachte Gerade scharen. Es soll jedoch darauf hingewiesen werden, daß das zur Verfügung stehende weibliche Probandengut noch viel zu gering ist, um dazu eine definitive Aussage machen zu können. Es deutet jedoch alles darauf hin, daß für beide Geschlechter die Aussage gilt: Die Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP und die Ausgangsaktivität korrelieren miteinander. Auffällig ist weiter, daß die mittlere Serum-Cholinesteraseaktivität beim männlichen Geschlecht insgesamt etwas höher ist, als beim weiblichen. Dasselbe gilt für die mittlere Restaktivität nach Vergiftung mit DFP. Rechnerisch läßt sich ein Korrelationskoeffizient bei Männern von $r = 0,57$ und bei Frauen von $r = 0,64$ ermitteln. Diese Werte deuten ebenfalls eine gegenseitige Abhängigkeit an.

4.6. Altersabhängigkeit der Korrelation

Schließlich wird untersucht, ob diese Korrelation abhängig ist vom Alter der Probanden. Hierzu wird jeweils der Mittelwert aus 5 Jahrgängen zusammengefaßt und gegen deren mittlere Ausgangsaktivität (Abb. 8) und gegen deren mittlere Restaktivität (Abb. 9) aufgetragen.

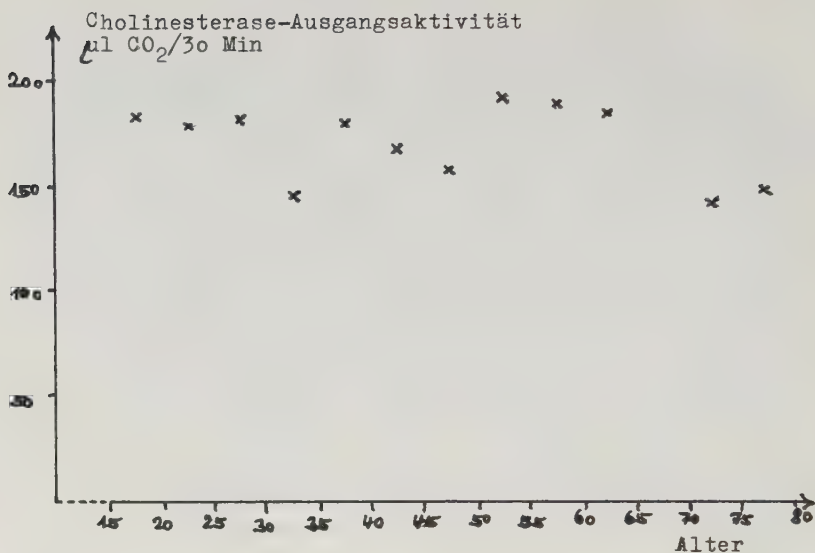


Abb. 8

Mittlere Ausgangsaktivität von jeweils 5 zusammengefaßten Jahrgängen

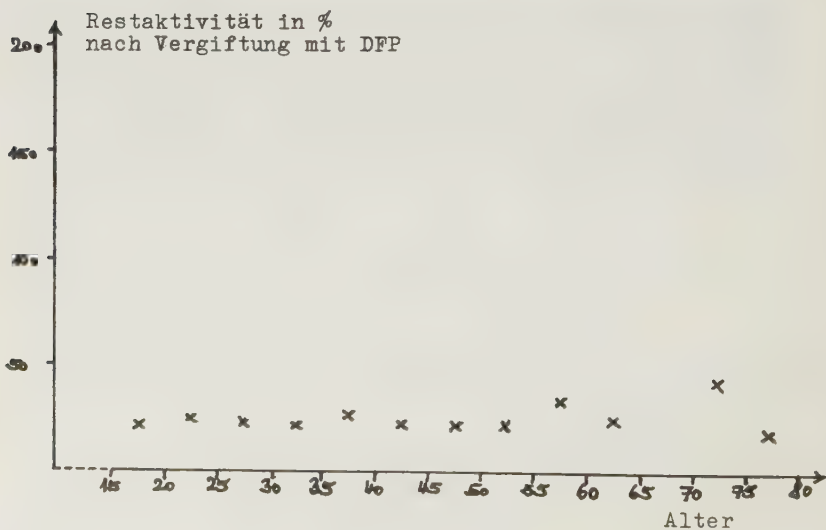


Abb. 9

Mittlere Restaktivität in % nach Vergiftung mit DFP von jeweils 5 zusammengefaßten Jahrgängen

In den Abbildungen 8 und 9 soll die Frage untersucht werden, ob die Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP und die Ausgangsaktivität abhängig vom Alter des Probanden sind. Denkbar wäre etwa auch eine Verminderung der Enzymaktivität im Alter. Eine solche Verminderung würde sich graphisch in einem Absinken der Kurve zur Abszisse darstellen. Nun ist aus Abb. 9 tatsächlich zu entnehmen, daß die mittlere Restaktivität bei den ältesten Probanden (75 - 80 Jahre) am niedrigsten ist. Dabei darf aber nicht übersehen werden, daß in dieser Altersstufe nur 3 Probanden untersucht wurden und bei einem von ihnen (Proband Nr. 54) alle gefundenen Werte extrem niedrig liegen, was eher darauf hin deutet, daß das untersuchte Serum nicht mehr ganz in Ordnung war. Ein Absinken der Restaktivität mit zunehmendem Alter ist nicht anzunehmen.

Für eine Abhängigkeit der Ausgangsaktivität vom Alter errechnet sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,36$, für die Abhängigkeit der Restaktivität vom Alter ist $r = 0,06$. Das bedeutet, daß die Ausgangsaktivität nicht abhängig ist vom Alter; sie kann beim jungen Probanden sowohl niedrige, als auch hohe Werte annehmen, dasselbe gilt für alte Probanden.

Der Wert $r = 0,06$ belegt eigentlich am deutlichsten, daß zwischen Restaktivität nach Vergiftung mit DFP und dem Alter des Probanden kein Zusammenhang besteht.

5. Diskussion

Gegenstand dieser Arbeit war es zu klären, ob eine Korrelation zwischen der Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP und der Ausgangsaktivität besteht. Weiter war zu prüfen, ob eine eventuelle Korrelation für beide Geschlechter in gleichem Maße gilt und ob sie altersabhängig ist.

Zur Untersuchung standen Blutseren von 70 Probanden zur Verfügung, die nach der Anti-ChE-Technik in einer Warburg-Apparatur getestet wurden.

Das Histogramm der Restaktivität in % der Ausgangsaktivität (Abb. 2) zeigt nicht eindeutig eine Gauß'sche Normalverteilung, was zur Bejahung einer Korrelation Voraussetzung wäre. Im Histogramm (Abb. 4) deuten die aufgetragenen Werte schon eher eine Korrelation an: Die Punkte liegen nahezu auf einer Geraden. Im direkten Vergleich der Meßwerte (Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität/Restaktivität in % nach Vergiftung mit DFP) wird diese Korrelation noch einmal angedeutet. Der errechnete Korrelationskoeffizient von $r = 0,59$ spricht ebenfalls für eine Abhängigkeit.

Auch bei einer Untersuchung getrennt nach Geschlechtern zeigt sich, daß die Serum-Cholinesterase-Ausgangsaktivität mit der Restaktivität nach Vergiftung mit DFP in Zusammenhang steht ($r = 0,57$ bei Männern, $r = 0,64$ bei Frauen), wobei bemerkenswert ist, daß die mittlere Serum-Cholinesterase-Aktivität und folglich auch die mittlere Restaktivität beim weiblichen Geschlecht insgesamt etwas niedriger ist, als beim männlichen. Die Restaktivität nach Vergiftung mit DFP ($r = 0,06$) und die Ausgangsaktivität ($r = 0,36$) sind nicht abhängig vom Alter des Probanden.

Durch die vorliegende Untersuchung wurde also belegt, daß zwischen der Restaktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase nach Vergiftung mit DFP und der Ausgangsaktivität eine Korrelation besteht. Diese Korrelation ist weder geschlechts- noch altersabhängig.

Literaturverzeichnis

1. AMMON, R.
Die fermentative Spaltung des Acetylcholins.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)
2. BÖCKLER, H.
Familienuntersuchungen zur Erbllichkeit der Rest-
aktivität der menschlichen Serum-Cholinesterase
nach Vergiftung mit DFP.
Dissertation Erlangen, 1980
3. BURGER, B.
Prüfung einer Korrelation zwischen der menschlichen
Serum-Paraoxonase - und DFPase-Aktivität bei 70 Per-
sonen.
Dissertation Erlangen, 1980
4. COHEN, J.A. and WARRINGA, M.G.P.J.
The fate of p^{32} labelled diisopropylfluorophosphate
in the human body and its use as a labelling agent
in the study of the turnover of blood plasma and
red cells.
J. clin. Invest. 33, 459 (1954)
5. FRIEDBERG, K.D. und SAKAI, P.
Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkyl-
phosphaten (E 600, E 605, Sytox) im Blut und Hirn-
gewebe mit Hilfe eines fermentaktivierenden Anti-
dots (Pyridin-Aldoxim-Methyljodid = PAM).
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 47, 580 (1958)
6. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M. und LINDORF, H.H.
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serumcholin-
esterasen mit Alkylphosphaten.
Vortrag auf der 48. Tagung der Deutschen Gesellschaft
für Rechtsmedizin in Berlin, 6.-9.10.1969

7. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M., RABAST, U. und LINDORF, H.H.
Unterschiedlicher Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600.
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)
8. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M., BAUMGARTNER, W., PETENYI, M., BURGIS, H., LINDORF, H.H. und METZNER, H.
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600 spaltenden Enzymsystems in menschlichen Seren.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 353, 217 (1972)
9. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M., LINDORF, H.H., PETENYI, M., FLÜGEL, M., Fischer, T. und HILLER, T.
Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase (E.C. 3.1.1.2)
Humangenetik 17, 331 (1973)
10. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M., PETENYI, M., FLÜGEL M., BURGIS, H., DIETZEL, B., METZNER, H., NIRSCHL, H. und RENNER, O.
Zur Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 354, 337 (1973)
11. GREINER, G.
Methode zur Bestimmung der Restaktivität der Serum-Cholinesterase (E.C. 3.1.1.8) im menschlichen Serum nach Vergiftung mit DFP
Dissertation Erlangen, 1980

12. GROB, D., LILIENTHAL, J.L.Jr., HARVEY, A.M.,
JONES, B.F. and TALBOT, S.A.
The administration of diisopropylfluorophosphate
(DFP) to man.
I. Effect on plasma and erythrocyte cholinesterase;
general systemic effects; use in study of hepatic
function and erythro-poiesis; and some properties
of plasma cholinesterase.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 81, 217 (1947)
13. GROB, D., LILIENTHAL, J.L.Jr., HARVEY, A.M.,
JONES, B.F. and TALBOT, S.A.
The administration of diisopropylfluorophosphate
to man.
IV. The effects on neuromuscular function in normal
subjects and in myasthenia gravis.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 88, 267 (1947)
14. HANSEN, D., SCHAUM, E. und WASSERMANN, O.
Organverteilung und Stoffwechsel von DFP (Diiso-
propylfluorophosphat) beim Meerschweinchen.
Arch. Toxikol. 23, 73 (1968)
15. KRISCH, K.
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenyl-
phosphat durch menschliches Serum.
Z. Chem. Klin. Biochem. 6, 41 (1968)
16. MAZUR, A. and BODANSKI, O.
The mechanism of in vitro and in vivo inhibition
of cholinesterase activity by diisopropylfluoro-
phosphate.
J. Biol. Chem. 163, 261 (1946a)

17. MAZUR, A. and BODANSKI, O.
An enzyme in animal tissues capable of hydrolysing
the phosphorus-fluorine bond of alkylfluorophosphates.
J. Biol. Chem. 164, 271 (1946b)
18. SCHAUMANN, W. und SCHILLER, M.
Inaktivierung von Alkylphosphaten im Gehirn und
im Serum.
Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. 239, 114 (1960)
19. SCHRADER, G.
Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage
organischer Fluor- und Phosphorverbindungen.
Verlag Chemie Weinheim (1952)
20. SCHRADER, G.
Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäure-
ester.
Verlag Chemie Weinheim (1963)
21. SÜLLMANN, E.
Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebs-
stoffwechsels.
In Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologisch-und
pathologisch-chemischen Analyse, Bd. VI - A.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1964)

Ich erlaube mir Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt für die Überlassung dieses Themas und ihre stets große Hilfsbereitschaft zu danken.

Herrn Professor Dr. G. Hommel, Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation und Herrn Dr. Schütz, Institut für Rechtsmedizin seien für ihren Rat zur statistischen Betrachtung des Themas herzlich gedankt.

Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling, Direktor des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Erlangen - Nürnberg, bin ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates zu Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Personalien: Christian Müller

geb. 4. Februar 1947 in Waldkirchen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Werner Müller, Versicherungs-
kaufmann

Elvira Müller, geb. Mende

Ausbildung: 1953 - 1957 Volksschule in Waldkirchen

1957 - 1960 Oberrealschule Passau

1960 - 1967 Hans-Sachs-Gymnasium Nürnberg

1967 Abitur

1967 - 1969 Wehrdienst in Amberg

1969 - 1974 Jurastudium Universität
Erlangen-Nürnberg

1974 - 1980 Studium der Zahnmedizin an
der Universität Erlangen-Nürnberg

1977 Zahnärztliche Vorprüfung

1980 Zahnärztliche Prüfung

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197